Estratto dai " Rendiconti „ del R. Ist. Lomb. di sc. e lett., Serie II, Vol. XXXVI, 1903.

SUL POTERE DI TRASLAZIONE DEL BACILLO DI EBERTH.

Nota

del prof. dott. Costantino Gorini

Fra i caratteri biologici che sono stati segnalati nel bacillo di Eberth o del tifo ve ne hanno parecchi, che mi sembra possano riunirsi in un sol gruppo, in quanto stanno tutti a rivelare nel detto bacterio uno speciale potere di traslazione o di diffusione, di cui mancano altri microrganismi che gli assomigliano sotto altri aspetti.

Trovano posto in questa categoria le seguenti proprietà che ricaviamo dai lavori dei diversi Autori:

1. Il bacillo del tifo, inoculato in terreni semisolidi, vi determina un intorbidamento generale, uniforme e si diffonde rapidamente in tutto il substrato; invece altri bacteri simili restano limitati nel punto di innesto formando un accumulo circoscritto, o tutt'al più danno luogo a fiocchetti galleggianti. Così dicono il Klein (1) che usa culture in gelatina comune tenuta fluida a 37° C.; lo Stroddart (2) che impiega un terreno formato di agar e gelatina che rimane semisodo a 35° C.; l'Hiss (3) che a questo terreno aggiunge del glucosio e un certo grado di acidità.

2. Nelle culture a piatto allestite con terreni a tenue contenuto gelatinoso, cioè di consistenza molle, il B. del tifo forma colonie che da tutta la loro periferia emanano lunghe propaggini, ora diritte, ora ricurve, ora contorte a spirale, ora a ciuffi, onde il nome di colonie a lunghi filamenti (*langfaserige*) o a flagelli (*Flagellatenform*). Altri bacteri simili invece danno colonie rotonde senza propaggini, o tutt'al più con qualche semplice protuberanza a treccia o a salsiciotto.

Questo comportamento è stato descritto primamente da Rosenthal (4) e Klie (5), che usarono una gelatina al 2,5—3 %: in se-

guito esso fu confermato da Piorkowski (6) colla gelatina all'urina, da Hiss (7) con gelatina-agar acida al glucosio, da Krause (8) con gelatina-agar acida all'urea, da Weil (9) con agar al succo di patate, ecc.

3. Gabritschewsky (10) fa notare che, seminando il B. di Eberth nel centro di un disco di carta da filtro umida disteso sopra una superficie orizzontale di agar, esso procede verso la periferia del disco con una rapidità molto maggiore di altri bacteri competitori.

4. Il B. del tifo, a differenza di altri suoi rivali, è capace di attraversare celeremente le pareti delle candele filtranti Chamberland, secondo Cambier (11), come pure uno strato di sabbia di 10—20 c. m., secondo Carnot e Garnier (12).

A spiegazione di questi diversi fatti sono stati invocati, a seconda dei casi e degli A., due momenti principali: ora la mobilità del B. del tifo, ora la sua proprietà di crescere in lunghi filamenti.

Senza entrare nel dibattito, poichè mi mancano esperienze personali in riguardo, riferirò quanto ho osservato a proposito di una altra di queste manifestazioni traslatorie, che ebbi opportunità di studiare con un semplice artificio di coltura.

Se si innesta il B. di Eberth direttamente nel liquido di condensazione che si raccoglie sul fondo delle provette di agar solidificato a becco di clarinetto, badando di non toccare coll'ago la superficie obliqua dell'agar e di mantenere la provetta in posizione verticale acciocchè il liquido di condensazione non si spanda sulla superficie stessa, si osserva che il bacterio, fin dall'inizio dello sviluppo, si arrampica sulla superficie obliqua dell'agar; per cui, già entro 18—24 ore a temperatura favorevole (25—37° C.), questa superficie appare di botto ricoperta uniformemente, fino all'altezza di un pajo di centimetri, da una patina sottile, umida, grigio-chiara, trasparente, la quale superiormente è limitata da un margine regolare, pressochè rettilineo.

Se invece seminiamo nell'egual modo il B. Coli *communis* (immobile) che per molti caratteri assomiglia al B. tifoso, esso, pur sviluppandosi rapidamente nel liquido di condensazione, non invade affatto, nelle prime 24 ore di sviluppo, la superficie dell'agar, o tutt'al più si limita a formarvi un orlicino di cultura o qualche puntina di cultura presso il margine superiore del liquido di condensazione.

Nei giorni successivi, tanto la patina ascendente del B. del tifo quanto l'orlicino o le puntine di cultura del B. Coli si avanzano più

o meno lentamente sulla superficie dell'agar, finchè dopo qualche tempo si arrestano del tutto, comportandosi in ciò come le solite culture a striscio sopra i terreni solidi, le quali si espandono più o meno dal punto di innesto.

Ma l'ascesa che si verifica contemporaneamente all'inizio dello sviluppo nell'acqua di condensazione è qualcosa di diverso dalla progressione sulle superfici solide, ed è meritevole, a mio giudizio, di essere considerata quale un vero fenomeno di arrampicamento attivo del bacterio dal medium liquido sulla superficie solida. Pertanto in base a quanto si osserva nelle prime 24 ore di sviluppo, diremo, per brevità, che il B. di Eberth ha proprietà ascendente, mentre il B. Coli *Communis* ne è privo.

Volendo indagare la ragione di questa differenza di comportamento fra i due bacteri simili, cominciai ad escludere che essa risiedesse in una diversa rapidità e intensità di sviluppo, poichè anzi, come rilevai facilmente dall'intorbidamento del liquido di condensazione, il B. Coli vi si sviluppava piuttosto prima che dopo il B. tifoso.

Allora considerando che il B. del tifo era mobile mentre il B. Coli era immobile, la prima idea fu che la proprietà ascendente stesse in rapporto colla mobilità dei bacteri.

Per sincerarmene, estesi le prove ad altre razze dei due bacilli, nonchè ad altre specie di bacteri mobili ed immobili.

Debbo dire che molti dei risultati ottenuti deporrebbero in sostegno della suddetta ipotesi. Infatti io ho osservato: *a)* che alcune varietà mobili di B. Coli si comportano come il B. di Eberth; *b)* che razze poco mobili di B. del tifo salgono meno celeremente delle razze tipiche più agili; *c*) che molti bacteri mobili hanno proprietà ascendente (B. levans, Breslaviensis, foecalis alcaligenes, enteriditis Gärtner, prodigiosus, fluorescens liquefaciens, proteus, typhi murium etc.); mentre molti bacteri immobili non sono ascendenti (B. acidi lactici, lactis aerogenes, lactis erytrogenes, pestis, pneumonicus Friedländer etc.).

Senonchè contro quest'accordo fra potere ascendente e mobilità parlano due osservazioni principali:

1. Che, anche quando l'arrampicamento sulla superficie dell'agar è completamente cessato, nello straterello superiore della patina ascendente i bacteri si mantengono agilissimi per parecchi giorni ancora.

2) Che parecchi bacteri mobili (come gli spirilli del colera asiatico, di Finkler, di Deneke, i bacilli pyocyaneus e cyanogenes etc.), sebbene nel liquido di condensazione si dimostrino dotati di vivace movimento, si comportano come i bacteri immobili circa l'ascesa sulla superficie solida.

Bisogna adunque ritenere che la mobilità non valga o almeno non basti a determinare il fenomeno dell'arrampicamento.

Una particolarità che attirò la mia attenzione nell'esame microscopico della patina ascendente di 18—24 ore, tanto del B. del tifo quanto degli altri bacilli arrampicanti, è la grande copia e la straordinaria lunghezza dei filamenti che essi ivi presentano, quale raramente mi accadde di osservare in altre condizioni.

Pensai allora che il potere ascendente avesse la sua base nello sviluppo di filamenti. E invero, esaminando al microscopio la medesima patina nei giorni successivi, quando cioè l'arrampicamento è cessato, notai che i filamenti vanno scomparendo per dar posto invece a bacilli pure mobili, ma delle ordinarie dimensioni.

In quest'opinione fui poi rafforzato dall'aver incontrato diverse specie di bacilli del terreno e delle patate che sebbene pochissimo mobili si arrampicavano a notevole altezza dal liquido sull' agar, producendovi lunghissimi filamenti, che nelle goccie pendenti si palesavano completamente immobili.

All'incontro, nessuno dei bacteri mobili o immobili, che non erano ascendenti, mostrò tendenza ad allungarsi in filamenti.

Da ultimo dirò che, facendo prove comparative fra culture ascendenti di tifo su agar alcalinizzato come di consueto, e sul medesimo agar non alcalinizzato, avente cioè la sua leggiera acidità naturale, osservai che in questo secondo caso l'arrampicamento del bacterio era più rapido e ragguardevole. Ora è noto che per l'appunto un leggiero grado di acidità organica (corrispondente a 0, 3 $^0/_0$ di acidità lattica secondo Krause) favorisce la formazione di filamenti da parte del bacillo tifoso.

Da tutto il complesso delle mie osservazioni io inclino adunque a ritenere che la proprietà ascendente sia in rapporto piuttosto colla filamentosità, che colla mobilità dei bacteri; alla mobilità può spettare, se mai, un'azione coadiuvante nella produzione del fenomeno.

Ciò posto, mi sia permesso elevare il sospetto che una simile interpretazione possa essere applicata anche ad altre delle summentovate manifestazioni di traslazione del B. di Eberth, che a tutta prima sembrerebbero legate alla mobilità e che in questo senso sono state infatti descritte da diversi Autori.

*
* *

Ed ora, analogamente a quanto fecero gli altri ricercatori a proposito dei fenomeni di traslazione da loro osservati, si potrebbe domandarsi se il fenomeno dell'arrampicamento presenti la possibilità di qualche applicazione pratica nella tecnica bacteriologica.

Sappiamo pur troppo che finora tutte le speranze di fondare sopra le proprietà morfologico-culturali del B. tifoso dei metodi assoluti di ricerca o di diagnosi, andarono man mano distrutte, o per opera degli stessi proponenti in seguito a rinnovate prove o per opera di altri esperimentatori che controllarono le proposte fatte.

Dal canto mio non durai fatica a convincermi che la proprietà ascendente non può essere utilizzata per distinguere il B. del tifo dal suo principale competitore, il B. Coli; perchè, come già dissi, trovai delle varietà di Coli che si comportano come il B. di Eberth, nonchè qualche razza di quest'ultimo che assomiglia quasi ai bacteri non ascendenti.

Similmente mi persuasi che detta proprietà non può servire neppure per isolare il B. del tifo dalle miscele bacteriche in cui comunemente si trova, ancora quando queste non contengano varietà ascendenti del B. Coli, perchè anche altre specie bacteriche che albergano frequentemente nelle acque, nelle feci ed in altri ambienti (diversi generi di Proteus, di B. fluorescenti, di B. del terreno etc.) mostrano proprietà ascendenti.

Tuttavia non è da escludersi *a priori* che essa possa rendere servigi in qualche caso, in cui il B. tifoso od altro bacterio ascendente trovasi in compagnia soltanto con bacteri non ascendenti. Ad esempio, da miscele artificiali di B. Eberthiano e di B. Coli non ascendente mi è riuscito di ottenere il primo in cultura pura nella patina ascendente, anche quando esso era in quantità piccola rispetto all'altro microbio. Così pure potei separare un B. Coli ascendente da una mescolanza col B. aerogenes non ascendente, mescolanza che spesso osservasi nelle feci dei bambini lattanti.

Inoltre le molto semplici culture ascendenti di B. tifoso o di altri bacteri possono essere impiegate con vantaggio (come feci più volte a scopo di dimostrazione) per l'allestimento di bei preparati a goccia pendente di bacilli e filamenti mobili, nonchè di buoni preparati di cilia, prelevando a tal uopo il materiale dal margine superiore della cultura, dove la patina è più recente e più tenue e contiene individui giovani e agili.

E giacchè siamo in campo di deduzioni pratiche, non credo di passare sotto silenzio l'importanza che la capacità del B. del tifo, di alcuni B. Coli e di altri bacteri di salire dai liquidi sulle superficie solide può avere per l'inquinazione dei vegetali (erbaggi, etc.) innaffiati con acque immonde.

Ma su questo argomento non credo opportuno di insistere per ora.

***

Riassumendo e limitandomi alla constatazione del fenomeno biologico, dalle mie ricerche risulta:

1.° Che alle note manifestazioni del potere di traslazione del bacillo tifoso va aggiunta quella di arrampicarsi attivamente dai liquidi sulle superficie solide di nutrizione;

2.° Che questa proprietà ascendente, che è comune a molti altri bacteri, sta in rapporto colla formazione di filamenti piuttosto che colla mobilità dei bacteri.

Milano, dal Laboratorio di bacteriologia della R. Scuola superiore di agricoltura, aprile 1903.

BIBLIOGRAFIA.

(1) Klein, citato nel *Manual of Bacteriology* di Muir e Ritchie. Londra, 2ª ed., 1899, p. 326.
(2) Stroddart, *Hygien. Rundschau*, VIII, p. 116; *Journ. of path. and bact.*, 1897, IV, p. 429.
(3) Hiss, *Hygien. Rundschau*, IX, p. 1288; *Journ. of experim. Medicine*, II, n. 6.
(4) Rosenthal, *D. Archiv f. Klin. Medizin*, Bd. 55, 1895.
(5) Klie, *Centralbl. f. Bakter.* XX, 1896, p. 49.
(6) Piorkowski, *Centralbl. f. Bakter.* XXV, p. 319, 1899.
(7) Hiss, loc. cit.
(8) Krause, *Archiv f. Hygiene*, XLIV, 1902, p. 75.
(9) Weil, *Hygien. Rundschau*, XI, 1901, p. 485.
(10) Gabritschewsky, *Zeit. f. Hygiene*, 1900, XXXV, p. 104.
(11) Cambier, *Revue d'Hygiène*, 1902, p. 64.
(12) Carnot e Garnier, *Compt. rend. Soc. de biologie*, 1902, n. 22 e 24.

Milano, 1093. — Tip Bernardoni di C. Rebeschini e C.

(13)